Nicht f. d. Austausch

Untersuchungen über Entwicklung und Fortpflanzung in der Gattung *Dunaliella*

Mit 5 Abbildungen im Text und 3 Tafeln

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

genehmigt von
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin

Von

Witta Lerche
aus Berlin-Zehlendorf

Tag der Promotion 22. Februar 1937
Tag der mündlichen Prüfung: 25. November 1936

1937

N 16

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535702_0149

Untersuchungen über Entwicklung und Fortpflanzung in der Gattung *Dunaliella*

Mit 5 Abbildungen im Text und 3 Tafeln

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

genehmigt von
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin

Von

Witta Lerche
aus Berlin-Zehlendorf

Tag der Promotion 22. Februar 1937
Tag der mündlichen Prüfung: 25. November 1936

1937

Referenten: Prof. Dr. M. Hartmann
Prof. Dr. K. Noack

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Sonderabdruck aus dem
Archiv für Protistenkunde
Bd. 88 1937
Herausgegeben von M. Hartmann in Berlin-Dahlem und A. Pascher in Prag
Verlag von Gustav Fischer, Jena

Lippert & Co. G.m.b.H., Naumburg (Saale)
Printed in Germany

Untersuchungen über Entwicklung und Fortpflanzung in der Gattung *Dunaliella*.

Inhaltsverzeichnis.

Seite

1. Einleitung 236
2. Material und Methoden 237
3. Morphologie 238
4. Physiologie 242
   a) Ursache der Rotfärbung 242
   b) Abhängigkeit des Wachstums von der Salzkonzentration 244
5. Ungeschlechtliche Fortpflanzung 247
6. Geschlechtliche Fortpflanzung 248
   a) Kopulationsauslösung 248
   b) Kopulation, Zygotenbildung und Keimung 250
   c) Geschlechtsbestimmung 252
   d) Gruppenbildung und Geschlechtsstoffe 255
7. Kreuzungen 256
8. Systematische Zusammenstellung aller bekannten Arten 259
9. Theoretische Schlußbetrachtungen 263
10. Zusammenfassung 265

1. Einleitung.

Die aufschlußreichen Untersuchungen über die Sexualität und Vererbung verschiedener Volvocalen, die in den letzten Jahren im Kaiser-Wilhelm-Institut für Biologie durchgeführt wurden, ließen es aussichtsreich erscheinen, noch weitere Vertreter dieser Chloro-

phyceengattung zu prüfen. Herr Prof. Dr. M. Hartmann wies mich auf die Polyblepharideengattung *Dunaliella* hin, die ich unter seiner anregenden Anleitung untersuchte.

Obwohl sich schon mehrere Forscher mit diesem Organismus beschäftigt hatten, waren die Ansichten über viele morphologische, ernährungs-, entwicklungs- und fortpflanzungs-physiologische Fragen außerordentlich verworren, so daß es sich schon aus diesem Grunde lohnte, hier durch exakte Kulturversuche — mit Klonkulturen war bisher überhaupt noch nicht gearbeitet worden — Klarheit zu schaffen. Besonders verlockende Aussichten für das Vererbungsexperiment bot das Vorkommen von rotgefärbten Formen neben den grünen. Wenn sich nun auch die Hoffnung auf eine Kreuzung Grün × Rot im Laufe der Untersuchung zerschlug, so ließen doch Ergebnisse in anderer Richtung die Bearbeitung lohnend erscheinen.

Der Gang der Untersuchung war folgender: zunächst wurde *Dunaliella*-Material von verschiedenen Standorten mit Hilfe von Klonkulturen auf seine Einheitlichkeit geprüft, d. h. meistens in mehrere Arten untergliedert, die dann mit denen anderer Standorte verglichen wurden. Diese vergleichende Untersuchung erstreckte sich auf morphologische Unterschiede (Zellform, Zellgröße usw.) und wurde durch physiologische Untersuchungen (Salzkonzentrationsoptimum, Karotinbildung) ergänzt. Nach systematischer Festlegung der einzelnen Arten wurden Fragen der kopulationsauslösenden Bedingungen, Art der Geschlechtsbestimmung, Vorkommen von Geschlechtsstoffen und Zygotenkeimung geklärt. Schließlich konnten dann einige Kreuzungen ausgeführt und analysiert werden.

2. Material und Methoden.

Es wurde Material von 3 Fundorten untersucht: aus Rumänien (Lacul Sarat), aus Sardinien (Cagliari) und aus Kalifornien (Marina See). Schlammproben oder Kulturen erhielt ich durch die liebenswürdige Vermittlung der Herren Prof. Dr. E. C. Téodoresco, Dr. Gaffron und Prof. Dr. L. G. M. Baas Becking, außerdem eine *Dunaliella* aus Vorderasien (Elton-See) vom botanischen Institut der deutschen Universität Prag.

Der Organismus wurde mit den im Kaiser-Wilhelm-Institut für Biologie üblichen Methoden kultiviert (Boveri-Schälchen, künstliche Sonne und unter Benutzung von glasdestilliertem Wasser). Da sich der Organismus als sehr widerstandsfähig erwies und keine großen Ansprüche an die Kulturtechnik stellte, wurden auch häufig einfache Erlenmeyer-Kölbchen und Leitungswasser benutzt.

Als Nährlösung diente zunächst Neapler Seewasser mit Zusatz von Erdlösung und der Schreibersalze (vgl. FÖYN, 1934). Da sich herausstellte, daß *Dunaliella* in konzentrierteren Salzlösungen besser gedeiht, wurde zunächst durch Eindampfen konzentriertes Seewasser benutzt, später als ebenso günstig destilliertes Wasser mit Zusatz von 5—10 Proz. NaCl und 5—10 Proz. Erdschreiberlösung. Als besonders einfache Kulturmethode unter Umgehung der Erdlösung, erwies sich folgendes Kulturmedium: eine KOLKWITZ-Tablette auf 1000 ccm steriles Leitungswasser unter Zusatz von 5—10 Proz. NaCl. Mit Agarkulturen wurden nur schlechte Ergebnisse erzielt.

3. Morphologie.

Von der Gattung *Dunaliella* waren — abgesehen von drei Arten des Süßwassers (PASCHER, 1928 u. 1932), die hier nicht untersucht wurden — bisher drei Arten bekannt: *Dunaliella salina* TÉODORESCO, *Dunaliella viridis* TÉODORESCO und *Dunaliella Peircei* NICOLAI. Diese und alle weiter untersuchten Arten kommen in salzhaltigem Wasser vor und zwar ist ihre Toleranz gegenüber der Salzkonzentration so groß, daß man sie schon in leicht brackigem Wasser finden kann, sie sich aber andererseits in den Solen der Salinen reich entwickeln. Besonders bekannt ist ihr Vorkommen in den hochprozentigen Salzwässern, wo sie — häufig fast als einzige Lebewesen — durch ihre gefärbten Zellen das Wasser rot erscheinen lassen.

Die bekanntesten Formen sind *Dunaliella salina* und *Dunaliella viridis*, die von mehreren Autoren — besonders eingehend von TÉODORESCO (1905, 1906) — untersucht wurden. Ihr Verbreitungsgebiet ist hauptsächlich Südeuropa und Nordafrika. Aber auch für die Salzgebiete Polens (LIEBETANZ, 1925) sind sie beschrieben worden. *Dunaliella Peircei* ist bisher nur in einem Salzsee Kaliforniens gefunden und von NICOLAI und BAAS BECKING (1935) beschrieben worden.

Die Diagnose, die TÉODORESCO für die beiden ersten Arten gibt, ist folgende:

Dunaliella salina: Cellulae mobiles haematochromate causa melleae, aurantiaco-flavescentes, rosae vel sanguineo-rufae, odorem gratum Violae emittentes, stigmato rubro distitutae, 12—16 μ ad 24—28,5 μ longae, 9,5 ad 13,5—17 μ crassae; zygota spherica, rubescentia, membrana laevi praedita, magnitudine varia, diametro vulgo 17—19 μ; cellulae perdurantes globosae, rubescentes, membrana duplici, externa rugulosa praeditae.

Dunaliella viridis: Cellulae mobiles haematochromate distitutae, 13 ad 15 μ longae, 6,3 ad 8,70 μ crassae, chlorophoro viridi, stigmato

rubro elongato in parte anteriori sito; zygota sphaerica viridia, membrana laevi; cellulae perdurantes non visae; vegetativae, divisione succedana in statu immobili familiae formant et cellulae filiales mobiles ruptura membranae cellulae matricalis liberae fiunt.

Die Unterschiede zwischen den beiden Arten sind danach folgende: *D. salina* ist etwas größer, ist rot, hat kein Stigma, hat Zygoten mit einfacher Membran und außerdem Dauerzellen mit doppelter Membran, während die etwas kleinere *D. viridis* nie rot wird und keine Dauerzellen bildet. Wie im folgenden gezeigt werden soll, konnte durch die verschiedensten Kulturversuche an zahlreichen Klonkulturen gezeigt werden, daß die Art *D. salina* eindeutig beschrieben war und mit einigen Abänderungen und Ergänzungen bestehen bleibt, während die Art *D. viridis* unklar umrissen ist und sich mehrere Arten in ihr verbergen.

Es stellte sich nämlich im Laufe der Untersuchung heraus, daß es sich um eine ganze Reihe von Arten handelt. Zur Übersicht seien diese zunächst einmal zusammengestellt und dann durch gemeinsame Betrachtung aller Arten — um Wiederholungen zu vermeiden — die einzelnen Formen morphologisch und physiologisch beschrieben und voneinander abgegrenzt.

Dunaliella salina Téodoresco,
D. salina f. magna [1]),
D. salina f. oblonga,
Dunaliella parva n. sp.,
D. parva Prag,
D. parva f. eugameta,
Dunaliella Peircei Nicolai,
Dunaliella media n. sp.,
Dunaliella euchlora n. sp.,
Dunaliella minuta n. sp.

Charakteristisch für die Gattung *Dunaliella* ist, wie bekannt, das Fehlen einer Membran, die durch Plasmolyse der Zellen oder durch Zellulosereaktion sichtbar gemacht werden könnte. Die Zellen sind nur von einer dichteren Hautschicht umgeben, die man bei geplatzten Zellen gut erkennen kann. Diese Hautschicht ist sehr elastisch, so daß die Form der Zellen unter bestimmten Außeneinflüssen (mechanischer und osmotischer Druck, Oberflächenspannung) sehr veränderlich ist.

Die Form der Zellen ist bei den Arten *D. salina*, *D. parva*, *D. minuta* und *D. euchlora* ellipsoidisch bis zylindrisch, bei der letzten

[1]) Die Aufstellung von Unterarten wurde aus Übersichtlichkeitsgründen unternommen, da der Untersucher, der nicht eingehende Kulturversuche macht, die einzelnen Formen doch nicht unterscheiden kann. Ein genetischer Zusammenhang, wie er zwischen *D. salina* und *D. salina f. oblonga* tatsächlich besteht, soll damit aber nicht angedeutet sein.

mit leicht zugespitztem Hinterende. *D. media* ist oval und nach hinten spindelartig verlängert, *D. Peircei* ist außerdem noch platt gedrückt, von blattähnlicher Form.

Ein charakteristisches Merkmal der einzelnen Arten ist die Zellgröße. Bei den vergleichenden Messungen erwies es sich als sehr wichtig, besonders darauf zu achten, daß nur Zellen im gleichen Entwicklungsstadium geprüft wurden, da die Ernährungsbedingungen im weitesten Sinne (Kulturmedium, Alter der Kultur, Licht und Temperatur) die genetisch bedingten Unterschiede vollkommen überdecken können. Es wurden deshalb solche Kulturen untersucht, die sich 2—3 Wochen unter guten Ernährungsbedingungen, besonders auch optimaler Salzkonzentration, an der künstlichen Sonne entwickelt hatten. Zur Messung wurden die Organismen kurz (andernfalls schrumpfen sie) mit Osmiumsäuredämpfen geräuchert und mit Hilfe eines Paraffinrandes unter dem Deckglas luftdicht abgeschlossen, wobei man weiter darauf achten muß, daß die Zellen frei in der Lösung schwimmen und auch nicht durch den geringsten Druck des Deckglases deformiert werden. Mindestens 200 Zellen jeder Art wurden bei 600facher Vergrößerung mit dem ABBÉschen Apparat gezeichnet, dann gemessen und der Mittelwert und die Extremwerte für Länge und Breite berechnet. Die Messungen ergaben folgendes:

D. salina: $17 \times 9\ \mu$ ($12—21\ \mu \times 6—13\ \mu$ [1]) (Taf. 4 Fig. 2 u. 3, Taf. 5 Phot. 2 u. 3). Diese Form, die den Hauptanteil des rumänischen und sardinischen Materials ausmachte, stimmt zweifellos mit der von TÉODORESCO beschriebenen überein. — Außerdem fand sich im rumänischen Material noch eine größere Form, die abgesehen von der Größe in allen morphologischen Eigenschaften mit *D. salina* übereinstimmt:

D. salina f. magna: $22 \times 14\ \mu$ ($16—29\ \mu \times 10—21\ \mu$) (Taf. 4 Fig. 1, Taf. 5 Phot. 1). — Als weitere Unterart wurde innerhalb eines Klons (Cagliari) eine schmälere und längere Form gefunden (vielleicht eine Mutation, falls es sich nicht doch um ein Versehen bei der Anlage des Klons gehandelt hat):

D. salina f. oblonga: $21 \times 7\ \mu$ ($15—28\ \mu \times 5—10\ \mu$) (Taf. 4 Fig. 4, Taf. 5 Phot. 4). — Die etwas kleinere Art *D. parva* entspricht in den Größenverhältnissen der von TÉODORESCO beschriebenen *D. viridis*, weicht aber in anderen Eigenschaften wesentlich ab. Folgende drei Formen, die sich teils morphologisch, teils physiologisch unterscheiden, wurden zu dieser Art gerechnet:

[1]) Vgl. Anm. 1 S. 261.

D. parva (Rumänien): $12 \times 7\ \mu$ ($9—14\ \mu \times 4—10\ \mu$) (Taf. 5 Phot. 6).

D. parva (Prag): $12 \times 7\ \mu$ ($10—16\ \mu \times 5—9\ \mu$) (Taf. 4 Fig. 5).

D. parva f. eugameta (Rumänien): $12 \times 5{,}5\ \mu$ ($9—14\ \mu \times 4—8\ \mu$) (Taf. 4 Fig. 8, Taf. 5 Phot. 7). — Messungen an der von Nicolai und Baas Becking eingehend untersuchten Form führten zu entsprechenden Ergebnissen:

D. Peircei: $15 \times 7\ \mu$ ($7—25\ \mu \times 3—12\ \mu$) (Taf. 4 Fig. 6 a u. b, Taf. 5 Phot. 5). Dicke des Körpers: $2—6\ \mu$. — Eine weitere kleine Form ist:

D. media: $13 \times 4\ \mu$ ($10—20\ \mu \times 3—5\ \mu$) (Taf. 4 Fig. 7, Taf. 5 Phot. 8). Die kleinsten Arten sind:

D. euchlora (Cagliari, Rumänien, Kalifornien): $9 \times 5\ \mu$ ($7—12\ \mu \times 4—7\ \mu$) (Taf. 4 Fig. 9, Taf. 5 Phot. 9) und die schmälere Art

D. minuta (Rumänien): $9 \times 3\ \mu$ ($7—11\ \mu \times 2—4\ \mu$) (Taf. 4 Fig. 10, Taf. 5 Phot. 10).

Am vorderen Zellende entspringen etwas getrennt voneinander (von einer Plasmapapille kann man kaum sprechen) zwei Geißeln, die mindestens eine, meistens doch 1,2—1,3 Körperlängen messen. Die drehende Vorwärtsbewegung der Zellen, ganz besonders die der großen Arten, ist im Gegensatz z. B. zu *Chlamydomonas* sehr langsam und schwerfällig.

Der Chromatophor kleidet die Zelle napfförmig aus und läßt an der Geißelbasis, je nach dem Ernährungszustand ein mehr oder weniger (in reservestoffreichen Zellen alter Kulturen) großes Stück frei (Taf. 4 Fig. 2 u. 3, Taf. 5 Phot. 2 u. 3). Im verdickten Basalteil des Chloroplasten liegt stets ein kugeliges bis ellipsoidisches Pyrenoid, das je nach dem Ernährungszustand der Zelle mit einem schmalen oder breiten Stärkering umgeben ist. Das Vorkommen von zwei Pyrenoiden, das häufig in alten Kulturen beobachtet wurde, kann als anormal angesehen werden. Der Chloroplast hat eine wabige Struktur. Durch Einlagerung von Karotin kann das Chlorophyll mehr oder weniger überdeckt werden, so daß der Chromatophor alle Farben vom kräftigen Orangerot über Gelbgrün, Oliv bis Grün annehmen kann. Der rote Farbstoff ist in Form öliger Tröpfchen zwischen den Waben des Chloroplasten eingelagert und nicht wie Hamburger (1905) annimmt, in der äußeren Alveolarschicht des Protoplasmas. Alle bisher untersuchten Arten tragen seitlich am Chloroplasten einen Augenfleck. Die Behauptung aller früherer Autoren, daß die roten Arten und teilweise die grünen keinen Augenfleck hätten, beruht wohl darauf, daß der rote Augenfleck am roten

Chromatophor übersehen wurde. Außerdem ist der Augenfleck gerade der sich rot färbenden Formen (*D. salina* und *D. parva*) sehr unscheinbar, ja unter bestimmten Ernährungsbedingungen nur als hyaline linsenartige, seitliche Vorwölbung bei Immersionsvergrößerung zu sehen. Die übrigen grünen Arten haben ein kräftiges ovales oder strichförmiges Stigma.

Der Zellkern liegt in der vorderen Zellhälfte in der Höhlung des napfförmigen Chloroplasten. Er ist im Leben selten als hyalines Bläschen zu erkennen (vgl. Abb. 2a). Häufig ist er von dunklen Körnern umgeben, die in ihrer kantigen Gestalt und ihrer Anordnung (Taf. 4 Fig. 1) charakteristisch für die Gattung *Dunaliella* sind. Es sind Stoffwechselprodukte, die unter optimalen Lebensbedingungen verschwinden. Ihre Natur wurde nicht ermittelt.

4. Physiologie.

a) Ursache der Rotfärbung.

Über die Ursache und Natur der Rotfärbung von *Dunaliella* gehen die Meinungen der Autoren weit auseinander. Téodoresco nimmt an, daß es eine rote und eine grüne Art gibt. Die rote Form könne unter ungünstigen Lebensbedingungen (in verdünnten Lösungen und im Schatten) grün werden. Blanchard (1891) und Hamburger (1905) halten die grünen Zellen für Jugendstadien der roten, während Labbé (1921) und Bujor (1928) verschiedene Salzkonzentrationen für die Färbung verantwortlich machen. Da Rotfärbung auch in Zuckerlösung auftrat, hält Labbé den osmotischen Druck für die eigentliche Ursache der Färbung, die sich nicht wieder rückgängig machen ließe.

In den vorliegenden Untersuchungen wurden zunächst Klone von roten und grünen Individuen von *D. salina* angelegt. Es stellte sich heraus, daß bei guten Entwicklungsbedingungen alle Klone, auch die ausgehend von roten Zellen, grün wurden. Nach mehreren Wochen jedoch verfärbten sie sich über oliv nach gelbgrün und wurden nach einigen Monaten schließlich rot. Da die Rotfärbung besonders in alten Kulturen auftrat, lag die Annahme nahe, sie in Zusammenhang mit den Ernährungsbedingungen und speziell mit dem Fehlen eines oder mehrerer Stoffe zu bringen. Da Phosphor und Stickstoff bei der pflanzlichen Ernährung häufig die Stoffe sind, die im Minimum vorhanden sind, wurde das Augenmerk zunächst auf diese Stoffe gerichtet.

Zur Untersuchung dieser Frage wurden grüne und rote Zellen von *D. salina* in künstliches Seewasser gebracht und Stickstoff in Form von $NaNO_3$ und Phosphor als NaH_2PO_4 in verschiedenen Mengen und Kombinationen hinzugefügt.

Folgende Versuchsreihen lieferten die klarsten Ergebnisse:

1. rote und grüne Zellen in Seewasser + 0,02 Proz. $NaNO_3$ + 0,002 Proz. NaH_2PO_4,
2. „ „ „ „ „ „ + 0 „ $NaNO_3$ + 0,002 „ NaH_2PO_4,
3. „ „ „ „ „ „ + 0,02 „ $NaNO_3$ + 0 „ NaH_2PO_4,
4. „ „ „ „ „ „ + 0 „ $NaNO_3$ + 0 „ NaH_2PO_4.

Nach dreiwöchentlichem Wachstum stellte sich folgendes heraus: Bei Versuch 1 waren die grünen Zellen grün geblieben, die roten hatten sich nach gelbgrün verfärbt. In den Versuchen 2, 3 und 4 waren alle Kulturen rötlich geworden bzw. rot geblieben. Hieraus kann geschlossen werden, daß die rotgefärbte *D. salina* eine Modifikation ist, die sich bei Mangel von Stickstoff oder Phosphor bildet. (In dem zur Kultur benutzten Erdschreibermedium erwies sich Stickstoff als Stoff im Minimum.) Die gleichen Ursachen der Rotfärbung stellte Reichenow (1909) schon für *Haematococcus pluvialis* fest und später R. Chodat (1927) — der allerdings nur Stickstoffmangel verantwortlich macht — für einige *Scenedesmus*-Arten und für *Chlorella rubescens*.

Während bei *Haematococcus pluvialis* der rote Farbstoff innerhalb weniger Tage gebildet wird und auch ebenso schnell wieder verschwindet, dauert es bei *Dunaliella* mehrere Wochen bis die Zellen vollkommen rot sind. Der einmal gebildete Farbstoff wird dann von den Zellen, auch unter optimalen Ernährungsbedingungen, durch viele Generationen hartnäckig erhalten, und in sonst ergrünten Kulturen kann man auch noch nach Monaten rote Individuen finden, so daß man wohl von einer Dauermodifikation sprechen kann.

Bei der Bildung des roten Farbstoffes spielt außerdem das Licht eine Rolle, und zwar ist die Verfärbung um so stärker, je heller die Kulturen stehen. In sehr schwachem Licht tritt keine Verfärbung ein.

Der rote Farbstoff, der in Form öliger Tröpfchen den Chromatophor imprägniert, färbt sich mit konzentrierter Schwefelsäure blau, ist in Alkohol und Äther löslich und ist wohl als ein Karotin anzusprechen. Wahrscheinlich steht er auch in Zusammenhang mit dem bekannten veilchenähnlichen oder karottenähnlichen Geruch, den die roten Kulturen ausströmen.

b) Abhängigkeit des Wachstums von der Salzkonzentration.

Die auffallendste Erscheinung von *Dunaliella* ist ihre große Toleranz gegenüber allen Konzentrationen der Meeressalze. So kann sie nicht nur als Zygote, ihrer Dauerform, konzentrierte Salzlösungen bis zur völligen Aussüßung überleben, sondern auch die vegetativen Formen überstehen alle Konzentrationsstufen, von der gesättigten Lösung bis nahezu zum Süßwasser. Kurze Zeit (einige Tage) können sie sogar reines Süßwasser ertragen, gehen dann allerdings allmählich zugrunde. Encystierung als Folge hoher oder niedriger Konzentration wurde nie beobachtet. Dagegen bildet *D. salina* (wahrscheinlich auch die anderen Arten, die nicht daraufhin untersucht wurden) bei Kochsalzkonzentrationen von 1 Proz. oder noch geringerem Gehalt zuweilen ein Palmellastadium. Die Schwärmer setzen sich fest, werfen die Geißeln ab und teilen sich in kleine runde Zellen auf (Durchmesser 6 μ), die große Ähnlichkeit mit Chlorellen haben. Die Rückwandlung in Schwärmer ist recht schwierig zu erreichen. Es gelang erst, nachdem die Palmellen längere Zeit in höherer Konzentration (10 Proz. NaCl) bei guten Ernährungsverhältnissen gezüchtet worden waren. LIEBETANZ berichtet von den Brackwässern Polens, daß *Dunaliella* dort normalerweise nur im Palmellastadium vorkommt und die Schwärmerform sich erst bei Kulturversuchen in höheren Salzkonzentrationen bildete.

Dunaliella kann zwar ihr Leben in fast allen Salzkonzentrationen fristen, doch ist der Konzentrationsbereich, in dem sie sich lebhaft vermehrt, also optimale Lebensbedingungen für sie herrschen, klein und scharf umrissen. Auch über diese Frage der optimalen Salzkonzentration werden von den Untersuchern (CAVARA, 1906; LIEBETANZ, 1925) verschiedene Meinungen vertreten, die sich aber nie auf exakte Versuche stützen und deshalb nicht diskutiert zu werden brauchen.

Zur Klärung der Frage, welche Salzkonzentrationen optimal für das Wachstum der einzelnen Arten sind und innerhalb welches Konzentrationsbereichs noch gute Wachstumsverhältnisse herrschen, wurde zunächst in einem Vorversuch festgestellt, daß innerhalb der Grenzen $^1/_4$—15 Proz. NaCl ein merkliches Wachstum feststellbar war. In höheren Konzentrationen bis zur absoluten Sättigung kann *Dunaliella* zwar noch ihr Leben fristen, teilt sich aber nur noch sehr wenig. In niedrigeren Konzentrationen zeigen die Zellen Degenerationserscheinungen und gehen allmählich zugrunde.

Zur Bestimmung der Wachstumsabhängigkeit von der Salzkonzentration wurden Erlenmeyerkölbchen mit 50 ccm $^1/_4$, $^1/_2$, 1, 2, 3 usw. bis 15 Proz. NaCl-Lösung und 5 Proz. Erdschreiberzusatz beschickt und mit einer bestimmten Menge — gegen 100 *Dunaliella*-Zellen — beimpft. Die Kulturen wurden unter gleichen Bedingungen bei $\sim 18^0$ an der künstlichen Sonne wachsen gelassen. Nach 3—4 Wochen, wo bei optimalen Konzentrationen starke Grünfärbung der Kulturen eingetreten war, wurde die Individuenzahl bestimmt und die Teilungsrate berechnet. Zur Auszählung der Zellen wurde mit Hilfe einer geeichten Mikropipette eine bestimmte Flüssigkeitsmenge auf einem Strichgitter mikroskopisch ausgezählt, nachdem die Zellen durch Osmiumsäuredämpfe abgetötet worden waren. Aus je 10 Messungen wurde der Mittelwert berechnet. Die Ergebnisse sind in den Kurven Abb. 1 dargestellt (vgl. Protokoll S. 266).

Aus den Werten ergibt sich, daß die einzelnen Arten verschiedene Konzentrationsoptima haben, weiter, daß der Bereich, worin gutes Wachstum stattfindet, für die einzelnen Arten verschieden groß ist, und schließlich, daß die Teilungsrate verschieden hoch ist, und zwar im allgemeinen umgekehrt proportional der Zellgröße. Auch die einzelnen Unterarten, die sich morphologisch sehr ähnlich sind, unterscheiden sich hier wesentlich voneinander; nur *D. salina* und *D. salina f. oblonga*, die, wie Kreuzungen ergaben, einander sehr nahe stehen, zeigen das gleiche Konzentrationsoptimum.

In der folgenden Übersicht sind die optimalen Salzkonzentrationen und die dazu gehörige Teilungsrate zusammengestellt.

Tabelle 1.

Art	Konzentrationsoptimum	Anzahl der Teilungen pro Tag
D. salina f. magna	4 %	0,47
D. salina (beide Geschlechter)	6—7 %	0,53
D. salina f. oblonga	6—7 %	0,54
D. parva (Rumänien)	7—8 %	0,50
D. parva (Prag)	5—6 %	0,56
D. parva f. eugameta	1—2 %	1,06
D. Peircei	4—5 %	0,81
D. media	4—5 %	0,82
D. euchlora	5—7 %	1,22

Nach Ansicht einiger Untersucher, insbesondere von Cavara (1906), ist die Zellform von der Salzkonzentration abhängig, und zwar seien die Zellen in extrem schwachen und starken Konzentrationen rund, in mittleren ellipsoidisch. Es handelt sich hier jedoch um eine Ver-

wechslung. Die Zellen, die in den verschiedenen Konzentrationen gezüchtet werden, haben alle die gleiche ellipsoidische Gestalt. Formveränderungen treten nur dann auf, wenn die Zellen osmoti-

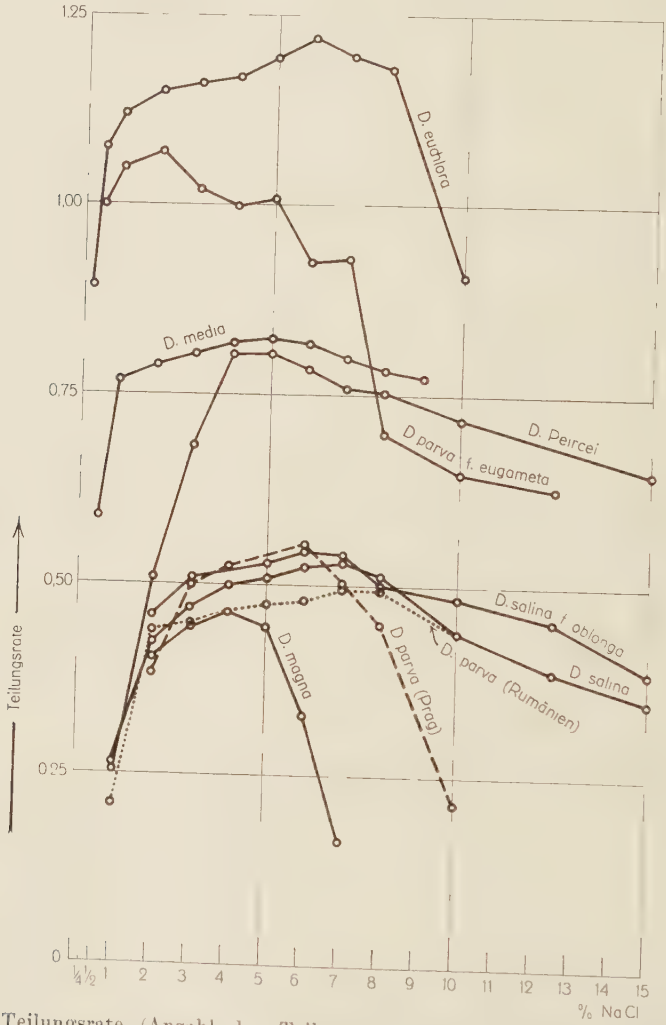


Abb. 1. Teilungsrate (Anzahl der Teilungen pro Tag). (Aus den Werten des Protokolls (S. 266) berechnet.)

schen Druckdifferenzen ausgesetzt werden. Bei starker Verdünnung des Mediums kann sich das Volumen der Zellen um ein Mehrfaches vergrößern, die Zellen runden sich ab und können auch platzen. Bei Einbringen in konzentriertere Lösungen werden die Zellen zu-

nächst lang und schmal, schnüren sich in der Mitte ein (zu hantelähnlicher Form) und schrumpfen bei höheren Konzentrationssteigerungen zu unregelmäßig eckigen Gebilden zusammen, die die schon öfter beschriebenen „pseudopodienartigen", aus feinen Plasmasträngen bestehenden Fortsätze tragen. Später können sich solche Zellen vorübergehend abrunden und zeigen dann, wie auch Cavara beobachtete, nur schwache Bewegungen.

Die Widerstandsfähigkeit gegen plötzliche Konzentrationsänderungen ist erstaunlich. *Dunaliella* kann praktisch alle Salzkonzentrationsänderungen ertragen. Wenn man z. B. *D. salina* aus 20proz. NaCl-Lösung mit destilliertem Wasser übergießt, so platzt zwar ein großer Teil der Zellen, es bleiben jedoch immer so viele übrig, daß bei günstigen Lebensbedingungen wieder gute Entwicklung eintritt.

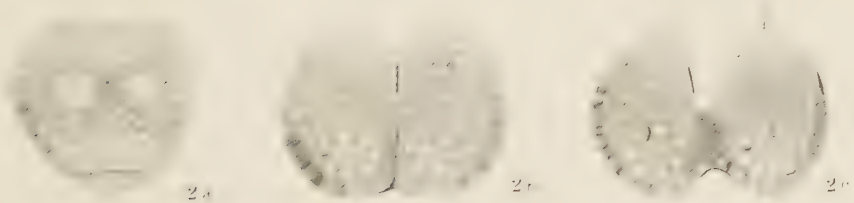


Abb. 2a—c.

5. Ungeschlechtliche Fortpflanzung.

Die Vorgänge der ungeschlechtlichen Vermehrung sind mehrfach untersucht worden (Téodoresco, Hamburger, Liebetanz, Nicolai und Baas Becking) und im wesentlichen bekannt. Nur lohnt es vielleicht, den Teilungsmodus zu schildern, der unter guten Vegetationsbedingungen die Norm ist, da die Ansichten der Autoren darüber auseinander gehen, in welcher Reihenfolge sich Kern, Geißel und Pyrenoid teilen.

Die Längsteilung in zwei Tochterzellen erfolgt im beweglichen Zustand. Wie aus Abb. 2a, b, c ersichtlich, teilt sich zunächst der Kern. (Der Kern im Leben ist nur in seltenen Fällen sichtbar.) Das Pyrenoid streckt sich in die Länge und die beiden Geißeln

weichen auseinander, dann beginnt die Einschnürung von beiden Seiten, häufig besonders von hinten, die Tochterindividuen bilden je eine neue Geißel aus, das Pyrenoid teilt sich, von einer Tochterzelle wird ein neuer Augenfleck gebildet und schließlich trennen sich die Zellen. Diese Reihenfolge der Zellorganellentstehung kann auch abgeändert sein, denn man findet (besonders in älteren Kulturen, die Bedingungen wurden nicht analysiert) Individuen, die die Geißeln vermehrt haben (Monsterindividuen mit 3, 4, aber auch 6 oder 8 Geißeln, die häufig als Kopulationsstadien angesprochen wurden) oder solche mit 2 Pyrenoiden oder 2 Augenflecken.

6. Geschlechtliche Fortpflanzung.

Auch die Vorgänge der geschlechtlichen Fortpflanzung sind vielfach untersucht worden. Aber auch hier standen sich so viele widerspruchsvolle Behauptungen gegenüber, daß eine Nachprüfung erforderlich war. Eine einheitliche Ansicht bestand eigentlich nur darüber, daß es sich um Isogamie handelt (nach Liebetanz sollen allerdings außerdem schlanke Mikrogameten vorkommen, deren Bedeutung ganz rätselhaft war), während in der Frage der kopulationsauslösenden Bedingungen, des eigentlichen Verschmelzungsvorganges und des Schicksals der Zygoten Unsicherheit herrschte. Die Frage der Geschlechtsbestimmung war noch gar nicht untersucht.

a) Kopulationsauslösende Bedingungen.

Das Auffinden der kopulationsauslösenden Bedingungen bereitete insofern zunächst Schwierigkeiten, als das Auftreten der roten „Cysten" in den Kulturen nicht als Kriterium für einen geschlechtlichen Vorgang gewertet werden konnte, da seit Teodorescos Untersuchungen — alle weiteren Forscher schlossen sich ihm an — die Auffassung herrschte, daß es Dauerzellen sexuellen und auch asexuellen Ursprungs gäbe. Die Zygoten sollten sich zwar von den asexuellen Cysten in einer einfachen Membran gegenüber einer doppelten Membran unterscheiden. Da nun in den Kulturen nur eine Cystenform auftrat, und die Frage der einfachen oder doppelten Membran sich schwer entscheiden ließ, mußte zunächst die Natur dieser Dauerzellen aufgeklärt werden. Es gelang auch schließlich, Kopulationen bis zur fertigen Zygote zu verfolgen, wobei sich herausstellte, daß die in den Kulturen aufgetretenen Dauerzellen Ruhestadien der Zygoten waren. Die Frage, ob Dauerstadien nur nach Kopulation gebildet werden, wurde im Laufe der Untersuchung bei allen Arten

immer wieder sorgfältig geprüft, da die sichere Entscheidung hierüber für die später angestellten Gonenanalysen unbedingt nötig war. In keinem Falle jedoch wurden Cysten, d. h. asexuelle Dauerformen, aufgefunden.

Die Frage der Kopulationsauslösung war besonders von Téodoresco angeschnitten. Er machte die verschiedensten Bedingungen dafür verantwortlich: Einbringen der Organismen aus Seewasser in konzentrierte $MgSO_4$- oder Na_2SO_4-Lösung, Belichtung von Dunkelkulturen oder starke Verdünnung von konzentrierten Lösungen. Da aus den Versuchsbeschreibungen die Vorbehandlungen der Kulturen nicht eindeutig hervorgehen, war es nicht verwunderlich, daß die Ergebnisse nicht reproduzierbar waren. Aus den Angaben Téodorescos aber und aus der biologischen Eigenart der Lebensweise von *Dunaliella* ließ sich schließen, daß vielleicht verschiedene Salzkonzentrationen bei der Auslösung der Sexualität eine Rolle spielen. Es wurden daher systematische Versuche mit Konzentrationsreihen der im Meer hauptsächlich vorkommenden Salze angestellt und dabei gefunden, daß *D. salina*, mit der diese Versuche zunächst durchgeführt wurden, durch Herabsetzung der Salzkonzentration sexuell stimuliert wird. Dabei ist die chemische Zusammensetzung der Salze gleichgültig, ausschlaggebend allein ist die Herabsetzung des osmotischen Wertes. Auch die Herabsetzung des Nährstoffgehaltes wurde durch parallele Versuche, in denen destilliertes Wasser oder Erdschreiberlösung zur Verdünnung benutzt wurde, als gametenbildender Faktor ausgeschaltet. Zur Auslösung von Kopulationen bei *D. salina* erwies sich folgendes Verfahren als besonders günstig: die Alge wurde in Erdschreiberlösung mit 10 Proz. NaCl kultiviert. Ein Teil dichter Algenaufschwemmung wurde mit zwei Teilen destilliertem Wasser versetzt und gut belichtet. Gametenbildung trat dann nach 2—4 Tagen, maximal nach 3 Tagen ein. Wie für *Chlamydomonas eugametos* (Moewus, 1933) ist auch für *Dunaliella* Licht zur Gametenbildung nötig, während die Kopulation ebenso gut im Dunkeln stattfindet.

Auch bei den übrigen Arten konnte die Herabsetzung der Salzkonzentration zur Auslösung von Kopulationen benutzt werden. Doch kommt bei diesen Arten noch als weiterer Faktor die Verminderung des Nährstoffgehaltes hinzu. In älteren Kulturen werden, auch bei gleichbleibender Salzkonzentration, reichlich Zygoten gebildet. Daß es sich wahrscheinlich um Nährstoffmangel handelt, ließ sich daran erkennen, daß Zugabe geringer Mengen von Erdlösung die Kopulationsneigung rückgängig machte. Zur Erzielung reichlicher Kopula-

tionen wurde bei diesen Arten so verfahren, daß in dem Zeitpunkt, wo in den Kulturen sich die ersten Zygoten bildeten, die Behandlung mit destilliertem Wasser vorgenommen wurde.

Bei *D. salina f. magna*, *D. media* und *D. parva* (Prag) gelang es nicht, Sexualität auszulösen. Da von den ersten beiden Arten bisher nur ein Klon isoliert werden konnte, mag möglicherweise Getrenntgeschlechtlichkeit vorliegen. Andererseits weist das Verhalten der Unterarten von *D. parva* darauf hin, daß die Tendenz zur sexuellen Fortpflanzung verschieden stark ausgeprägt sein kann. So bildet *D. parva f. eugameta* viel leichter und zahlreicher Zygoten als *D. parva* (Rumänien). Bei *D. parva* (Prag) könnte die Geschlechtlichkeit ganz rückgebildet sein.

b) Kopulation, Zygotenbildung und Keimung.

Da die Gameten durch physiologische Umstimmung aus den vegetativen Schwärmern entstehen, gleichen sie diesen morphologisch. Der Kopulationsvorgang, der dem von *Chlamydomonas* weitgehend ähnelt, wird dadurch eingeleitet, daß die Zellen mit ihren Vorderenden aufeinander zustoßen und dort durch eine schmale Plasmabrücke miteinander verkleben. Nachdem die Vorderenden näher aneinander gerückt und weiter verschmolzen sind (Taf. 4 Fig. 11 a—d und Abb. 3 a—f), kippen die Zellen seitlich um und verschmelzen von vorn nach hinten. Kopulation durch Verschmelzung der Hinterenden (Cavara) wurde nie beobachtet und ist als teratologisches Teilungsstadium zu deuten. Auch Kopulation von drei Gameten wurde nie festgestellt. Die Abbildung, die Teodoresco (1906, Taf. 7 Fig. 69) dafür gibt, zeigt eindeutig, daß es sich hier um Verschmelzung eines Gameten mit einem anormalen Teilungsstadium handelt.

Die Zygote, in der noch längere Zeit die beiden Pyrenoide und die Verwachsungsnaht erkennbar sind, wirft die Geißeln ab und umgibt sich mit einer Membran. Der Verschmelzungsvorgang war nach meinen Beobachtungen frühestens nach einer Stunde beendet, kann aber wesentlich längere Zeit dauern. Die Planozygoten sind bei keiner Art phototaktisch. Die Zygoten der größeren und schwerfälligen Art *D. salina* sammeln sich am Boden des Gefäßes an, während Kopulation und Zygotenbildung der kleineren Arten häufig an der Wasseroberfläche stattfinden. Die Zygoten können noch beträchtlich heranwachsen. Der Inhalt färbt sich rot und die granulierte Struktur läßt die Pyrenoide dann nicht mehr erkennen. Die Zygoten der verschiedenen Arten sind nicht voneinander zu unter-

scheiden. Sie haben alle eine glatte Außenmembran, die infolge äußerer Einflüsse zwar etwas geschrumpft aussehen kann, die aber nie die von Hamburger und Liebetanz beschriebene höckrige Skulpturierung zeigen.

Da die Keimung der Zygoten zunächst Schwierigkeiten bereitete, wurden auch hierüber systematische Versuche angestellt. Es wurden besonders die Faktoren geprüft, die unter natürlichen Verhältnissen wahrscheinlich eine Rolle spielen, wie Austrocknen und Konzentra-

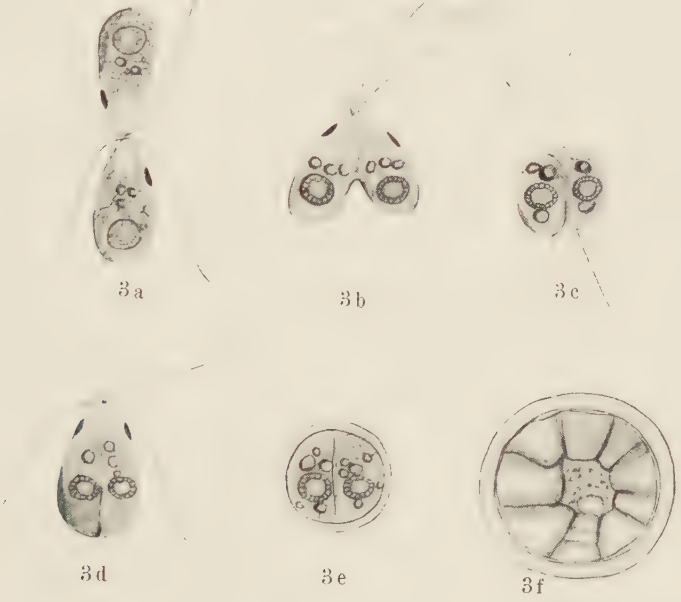


Abb. 3a—f.

tionsänderung des Milieus. In mehreren Versuchsreihen wurde 1. Zeitdauer des Zygotenwachstums, 2. Dauer der Trockenperiode und 3. die Konzentration des neuen Kulturmediums variiert. Vollkommen gleichmäßig einsetzende Keimung, die genetische Versuche sehr erleichtern würde, wurde bisher nicht erreicht. Die günstigsten Erfolge, d. h. Keimung nahezu aller Zygoten in einem Zeitintervall von 3 Wochen wurde bei folgender Behandlung erzielt: die Zygoten wurden 3—4 Wochen in der ursprünglichen, zur Gametenauslösung verdünnten Kulturflüssigkeit wachsen, dann 2 Wochen langsam austrocknen gelassen und in höher konzentrierte Flüssigkeit (5—10 Proz. NaCl) gebracht. Nach 3—4 Wochen begann die Keimung. Ob die

Bedingungen auch für die anderen Arten besonders günstig sind – die Keimungsversuche wurden an *D. salina* durchgeführt –, steht dahin, sie führten jedenfalls auch bei den übrigen Arten zum Erfolg. Die verschiedenen Ansichten der Autoren darüber, ob aus den Zygoten 2, 4, 8, 16 oder 32 Zellen ausschlüpfen, bestehen alle zu Recht. Für *D. salina*, von der das größte Beobachtungsmaterial vorliegt, wurden bis 16 Abkömmlinge gezählt. Die Anzahl der pro Zygote entstehenden Keimlinge hängt, wie sich aus dem Verhalten von Zygoten ergibt, die bis zur Keimungsauslösung unter gleichen Bedingungen gewachsen sind, dann aber auch unter ungleichen Keimungsbedingungen immer die gleiche Anzahl Keimlinge liefern, wahrscheinlich mit der Größe, also den günstigen Wachstumsbedingungen der Zygote bis zur Auslösung der Keimung zusammen und ist danach nicht artspezifisch. Das Ausschlüpfen der Tochterzellen erfolgt durch einen Riß in der Membran. Austritt durch einen präformierten Deckel (Liebetanz) wurde nie beobachtet. Bei der Keimung kann man manchmal eine zarte Endomembran erkennen, die bei der ruhenden Zygote schwer sichtbar ist (Abb. 4).

Abb. 4.

Wie sich aus genetischen Versuchen ergab, findet die Reduktionsteilung bei der Keimung der Zygote statt. In mehreren Fällen schlüpfte nur eine Zelle aus der Zygote, die im Laufe der 3 nächsten Tage in gleichmäßigen Abständen zwei Teilungsschritte durchmacht. Vermutlich finden auch dann erst zwei Kernteilungen, die beiden Reduktionsteilungsschritte statt, denn wenn in der Zelle schon beim Ausschlüpfen die vier reduzierten Kerne vorhanden wären, hätte man wohl einen Simultanzerfall oder sehr schnell aufeinander folgende Teilungen erwarten müssen. Auch müßte es dann gelegentlich vorkommen, daß die vier Kerne ungleichmäßig auf die ersten beiden Zellen verteilt worden wären, wofür die genetische Analyse aber keinen Anhaltspunkt gab. Auch die Möglichkeit, daß drei Kerne zugrunde gegangen wären, konnte durch Tetradenanalyse ausgeschaltet werden.

c) Geschlechtsbestimmung.

Die Untersuchungen zur Analyse der Geschlechtsbestimmungen ergaben, daß die Mehrzahl der untersuchten *Dunaliella*-Arten monözisch sind und phänotypische Geschlechtsbestimmung zeigen. Innerhalb zahlreicher Klonkulturen (und Subklone zur doppelten Sicherung) wurde Kopulation und Zygotenbildung beobachtet und damit das

zwittrige Verhalten der Arten *D. parva* (Rumänien) *D. parva f. eugameta, D. Peircei, D. euchlora* und *D. minuta* sichergestellt.

D. salina, die besonders eingehend untersucht wurde, ist genotypisch getrenntgeschlechtlich. Nur in einem Falle wurde subdiözisches Verhalten festgestellt. Zahlreiche Klone aus Rumänien und Sardinien wurden kombiniert und, wie Tab. 2 für eine Auswahl zeigt, strenge Zweigeschlechtlichkeit festgestellt. Fälle relativer Sexualität oder verschiedener Geschlechtsvalenzen wurden nicht beobachtet. Auch *D. salina f. oblonga* ist ein Diözist. Von dieser Form war ursprünglich nur ein —-geschlechtlicher Stamm vorhanden. Der +-geschlechtliche wurde erst später als Neukombination aus der Kreuzung mit *D. salina* erhalten.

Tabelle 2.
(C und R = Klone aus Cagliari und Rumänien.)

	+ C_1	+ C_4	+ C_5	+ C_6	+ R_6	+ R_7	— C_2	— C_3	— C_6	— C_7	— R_1	— R_2	— R_3	— R_4
+ C_1							Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z
+ C_4							Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z
+ C_5							Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z
+ C_6							Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z
+ R_6							Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z
+ R_7							Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z	Z
— C_2	Z	Z	Z	Z	Z	Z								
— C_3	Z	Z	Z	Z	Z	Z								
— C_6	Z	Z	Z	Z	Z	Z								
— C_7	Z	Z	Z	Z	Z	Z								
— R_1	Z	Z	Z	Z	Z	Z								
— R_2	Z	Z	Z	Z	Z	Z								
— R_3	Z	Z	Z	Z	Z	Z								
— R_4	Z	Z	Z	Z	Z	Z								

Wenn auch eigentlich das strenge Zweierschema ein Beweis dafür ist, daß trotz völliger Isogamie der Gameten ein eindeutig festgelegter Geschlechtsunterschied besteht, und daß nur geschlechtsverschiedene Gameten miteinander kopulieren, so bot sich in *D. salina* ein günstiges Objekt, das klar zu demonstrieren. Wenn man nämlich einen Klon, d. h. das eine Geschlecht dadurch markiert, daß man eine durch Karotin rot gefärbte Modifikation nimmt, für das andere Geschlecht die grüne Form benutzt, so kann man bei mikroskopischer

Beobachtung der Kopulation feststellen, daß immer nur eine rote und grüne Zelle aufeinander zustoßen und, wie die halb rot halb grün gefärbten Zygoten beweisen, auch nur solche Gameten aus geschlechtsverschiedenen Klonen miteinander verschmelzen (Taf. 6).

Da auch die schmächtige *D. salina f. oblonga* mit *D. salina* kopuliert, konnten die geschlechtsverschiedenen Klone außer dem Farbunterschied auch durch Formunterschiede gekennzeichnet werden. Die Kopulationsstadien z. B. der mit Reservestoffen gefüllten runden roten Zellen mit den schlanken grünen Gameten würden dem unvoreingenommenen Beobachter eine Anisogamie vortäuschen (Taf. 4, Fig. 12a, b, Taf. 5, Phot. 11a, b u. 12a, b).

Zur Feststellung, ob genotypisch bedingte Getrenntgeschlechtlichkeit vorliege, wurden Gonenanalysen vorgenommen. Isolierte Zygoten wurden in einem Nährlösungstropfen auf Objektträgern in feuchten Kammern zum Keimen gebracht und von den vier Abkömmlingen Klone angelegt. In den Fällen, wo nur ein oder zwei Zellen aus der Zygote ausschlüpften, wurden die Zellen in einen neuen Nährlösungstropfen isoliert und nach einer oder zwei Teilungen die vier Abkömmlinge und somit die Produkte des ersten und zweiten Teilungsschrittes der Reduktionsteilung getrennt aufgezogen. Wie aus Tab. 3 hervorgeht, erfolgt die Geschlechtsbestimmung genotypisch:

Tabelle 3.
Gonenanalyse von *Dunaliella salina* (diözisch).

Zygote Nr.	Zahl der geschlüpften Zellen	*Zahl der untersuchten Zellen	Geschlechtsverteilung	Reduktionsteilungsschritt
1	2	4	2 +; 2 —	2
2	4	3	1 +; 2 —	?
3	4	3	2 +; 1 —	?
4	4	4	2 +; 2 —	?
5	2	4	2 +; 2 —	1
9	4	3	2 —; 1	?
10	2	4	2 +; 2 —	1
11	4	3	2 +; 1 —	?
12	4	4	2 +; 2 —	?
13	4	4	2 +; 2 —	?
14	4	4	2 +; 2 —	?
15	4	3	2 +; 1 —	?
17	2	4	2 +; 2 —	1
18	2	4	2 +; 2 —	1
19	2	4	2 +; 2 —	1
20	4	3	2 +; 1 —	?
21	4	4	2 +; 2 —	?

*) Es wurden stets die vier Abkömmlinge isoliert. Da bei dem etwas schwierigen Isolierverfahren manchmal einer der Abkömmlinge zugrunde ging, konnten in verschiedenen Fällen nur drei Abkömmlinge untersucht werden.

aus einer Tetrade gehen stets 2 +- und 2 —-geschlechtliche Zellen hervor. Der Geschlechtsrealisator kann im ersten oder zweiten Teilungsschritt verteilt werden.

Unter den zahlreichen geprüften Klonen von *D. salina* fand sich ein Klon, der trotz wiederholter Isolierungen immer wieder Zygoten bildete. Da die Neigung hierzu nur sehr schwach ist, konnte der vollständige Verschmelzungsvorgang nicht beobachtet werden. Die mehrfache Feststellung von 4-geißeligen Stadien mit zwei Pyrenoiden und besonders auch von zwei Pyrenoiden in den Dauerzellen, rechtfertigt die Annahme, daß es sich auch hier um Zygoten handelt. Aus der Zygote schlüpften vier oder acht Keimzellen, die auch hier wieder untersucht und geprüft wurden. Es ergab sich (Tab. 4), daß

Tabelle 4.
Gonenanalyse von *Dunaliella salina* (subdiözisch).

Zygote Nr.	Zahl der geschlüpften Zellen	Zahl der untersuchten Zellen	Zahl der Subdiözisten
1	4	3	3
3	4	3	3
4	4	4	4
5	8	5	5
7	8	5	5
9	4	4	4
11	4	2	2

innerhalb aller Klone wieder Zygoten gebildet wurden. Dies Ergebnis der Gonenanalyse ließ zunächst auf ein schwach monözisches Verhalten schließen. Jedoch bei Kreuzungsversuchen mit der diözischen Form, die allerdings erst nach verschiedenen Fehlschlägen erfolgreich waren, stellte sich heraus, daß dieser Stamm mit +-geschlechtlichen Gameten der getrenntgeschlechtlichen Form stark reagiert, also eine ausgesprochen —-geschlechtliche Tendenz zeigte. Es handelt sich also um eine getrenntgeschlechtliche Form mit schwach zwittriger Neigung, d. h. um einen Subdiözisten.

d) Gruppenbildung und Geschlechtsstoffe.

Bei Kombination geschlechtsverschiedener Gameten von *D. salina* wurde auch das Phänomen der Gruppenbildung beobachtet (Taf. 5 Phot. 13 a, b). Die Bildung der Gruppen ist allerdings langsamer und weniger heftig als die von Moewus (1933) bei *Chlamydomonas eugametos* beobachtete. Sie bilden sich erst einige Minuten nach Kombination, bestehen meistens aus 60—100 Zellen und bleiben aber sehr lange

(12 Stunden und mehr) bestehen, während die von *Chlamydomonas* sich schon nach $^1/_2$ Stunde auflösen.

Auch hier konnten zwei verschiedene Geschlechtsstoffe nachgewiesen werden. Da die Geschlechtsstoffausscheidung bei *Dunaliella* anscheinend schwächer als die bei *Chlamydomonas* ist, konnten die Stoffe erst nach mehrfachen vergeblichen Bemühungen folgendermaßen festgestellt werden: bei gut angewachsenen Kulturen wurde in der oben geschilderten Weise Gametenbildung ausgelöst. Am 3. Tag nach der Behandlung mit destilliertem Wasser wurde das Material durch Zentrifugieren konzentriert, nochmals einige Stunden recht hell gestellt und dann durch Zentrifugieren alle Zellen (natürlich mikroskopisch geprüft) von der Kulturflüssigkeit getrennt und die Geschlechtsstoff enthaltende Flüssigkeit zu Zellendes anderen Geschlechts hinzugefügt. Nach verhältnismäßig langer Zeit (ca. $^1/_2$ Stunde) bilden sich Gruppen, die nahezu ebenso groß sind wie die normalen Gruppen (Taf. 5 Phot. 14 a, b) und die auch sehr lange erhalten bleiben. Bei Versuchen mit roten und grünen Gameten zeigte sich an der Größe der Gruppen, daß die Geschlechtsstoffproduktion der roten Modifikation schwächer ist als die der grünen, was ja auch einleuchtend ist, da die Rotfärbung eine Mangelerscheinung ist. Die Geschlechtsstoffe konnten nur in Zentrifugaten nachgewiesen werden. Filtrierte Lösungen (Membranfilter von 0,75 Porenweite) waren auch nach Zugabe von Bakterien wirkungslos. Auch Versuche mit Geschlechtsstoffen von *Chlamydomonas eugametos* waren erfolglos: es handelt sich also anscheinend um einen für *Dunaliella* spezifischen Stoff.

7. Kreuzungen.

Das bei Beginn der Arbeit gesetzte Ziel, die rote und die grüne *Dunaliella*-Art zu kreuzen, wurde im Laufe der Untersuchung so modifiziert, Arten, die die Fähigkeit haben, im vegetativen Zustand unter bestimmten Bedingungen Karotin zu bilden, mit solchen, die stets grün bleiben, zu kreuzen, um die mendelistische Grundlage dieser Eigenschaft zu klären. Leider gelang diese Kreuzung nicht; es besteht auch, jedenfalls im Rahmen der untersuchten Arten, wenig Aussicht dazu, da die in Frage kommenden Formen doch recht verschieden sind.

Dagegen gelangen zwei Kreuzungen, die einen morphologischen und einen geschlechtsbestimmenden Faktor betreffen. Genauer untersucht wurde vorläufig nur die Kreuzung:

Dunaliella salina × *Dunaliella salina f. oblonga.*

Beide Formen lassen sich bei Vergleich von Kulturen, die unter gleichen, günstigen Wachstumsbedingungen stehen, ohne weiteres mikroskopisch unterscheiden. Zur exakten Erfassung des Unterschiedes wurden außerdem an je 400 Individuen Messungen der Länge und Breite angestellt und der Quotient dieser beiden Größen gebildet. Die variationsstatistische Auswertung führte zu folgenden, sich nur wenig übergreifenden Kurven. Es wurden 36 Tetraden analysiert. Wie sich aus der Aufspaltung (Tab. 5) ergibt, ist die Eigenschaft der länglichen bzw. runden Körperform monofaktoriell bedingt. Der Formfaktor spaltet unabhängig vom Geschlechtsrealisator. Da bei der untersuchten Kreuzung zunächst nur eine Zelle aus der

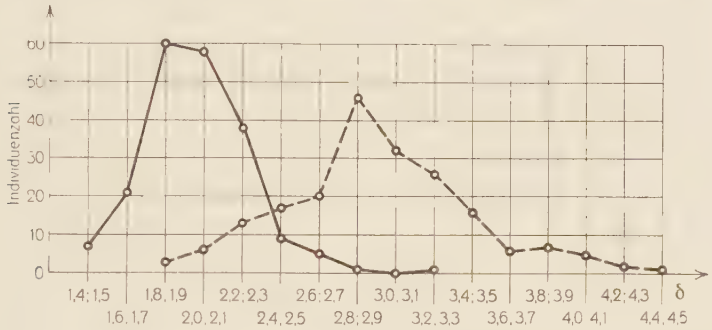


Abb. 5. Variationskurve für Körperform $\delta = \frac{\text{Körperlänge}}{\text{Körperbreite}}$, für *D. salina* und *D. salina f. oblonga*. Ausgezogene Kurve: *D. salina*, gestrichelte Kurve: *D. salina f. oblonga*.

Zygote schlüpfte, konnten die vier Abkömmlinge der Reduktionsteilung den einzelnen Teilungsschritten zugeordnet werden, wobei sich herausstellte, daß die Verteilung der beiden Faktoren im ersten Teilungsschritt (acht Fälle), im zweiten Teilungsschritt (zehn Fälle) oder in beiden Teilungsschritten stattfinden kann (zwölf Fälle). Die beiden Gene können also sowohl in der ersten wie in der zweiten Teilung reduziert werden. Ob diese Tatsache durch Prä- oder Postreduktion der ganzen Chromosomen oder durch Crossing-over zu erklären ist, sei dahingestellt.

Als weitere Kreuzung wurde folgende ausgeführt:

Dunaliella salina diözisch × *Dunaliella salina* subdiözisch. Da diese Kreuzung trotz mehrfacher Bemühungen erst kurz vor Abschluß der Arbeit gelang, liegen vorläufig die Ergebnisse der Gonenanalyse noch nicht vor.

Tabelle 5.

Gonenanalyse der Kreuzung *Dunaliella salina* × *Dunaliella salina f. oblonga*.
+ R — r

Zygote Nr.	Form und Geschlecht der geprüften Abkömmlinge				Reduktionsteilungsschritt für	
	a′	a″	b′	b″	Form	Geschlecht
11	r —	r —	R +	R +	1	1
5	R +	r —	R +	r —	2	2
7	r +	R —			2	2
1	R +	r —	r +	R —	2	2
10	r +	R —			2	2
6	R +	r —	R +	r —	2	2
27	r +	R —	R +	r —	2	2
28	r +	R —	R +	r —	2	2
18	R +		R —	r —	2	1
36	R +		r —	r —	1	1
41	R +	r +	R —		2	1
33	r +	r —	R —	R +	1	2
40	r —	R —	r +	R +	2	1
45	r +		r —	R —	2	1
49	r —	R —	R +		2	1
3	r +	R —	R +	r —	2	2
15	R +	r +	r —		2	1
29	r —	r —	R +	R +	1	1
35	R	R +			1	2
44	R +	r +	r —	R —	2	1

Tabelle 5 (Fortsetzung).

Zygote Nr.	Form und Geschlecht der geprüften Abkömmlinge				Reduktionsteilungsschritt für	
	a′	a″	b′	b″	Form	Geschlecht
46	R —	r +	r —		2	1
48	R —	R —	r +	r +	1	1
19	r -	r -	R +	R -	1	1
20	R +	r —	r —	R -	2	2
25	R -	r +	R		2	1
14	r	r			1	1
37	r +	R —	R +	r —	1	1
34	R —	R —	r +	r +	1	1
47	R +	r +	R —		2	1
38	R —		R +	r —	2	2
43	R +	R +	r —	r —	—	—
8	R +	R +	r —	r —	—	—
22	R +	R —	r +		—	—
21	R —	R —	r +	r	—	—
17	R -	r -	r —		—	—
31	R -	R -	r -			

a′, a″, b′, b″ bedeuten Abkömmlinge von den durch den ersten Reduktionsteilungsschritt gebildeten Zellen a und b. Bei a, b, c, d konnten die Zellen aus technischen Gründen nicht zu bestimmten Teilungsschritten zugeordnet werden.

8. Systematische Zusammenstellung aller bekannten *Dunaliella*-Arten.

Da in der vorliegenden Arbeit die meisten bekannten Arten der Gattung *Dunaliella* – jedenfalls alle Salzwasserformen – untersucht wurden, eine Reihe neuer Arten aufgestellt und die Beschreibung

morphologischer und physiologischer Eigenschaften teils ergänzt, teils verändert wurde, lohnt es sich wohl, in Anlehnung an die Gattungs- und Artbeschreibung von Téodoresco und unter Einbeziehung der von Pascher (1928 u. 1932) untersuchten Süßwasserformen, einen systematischen Überblick über alle bisher bekannten Arten zu geben.

Dunaliella Téod. Einzelliger grüner Flagellat mit zwei Geißeln (1—1,3 Körperlängen), von ellipsoidischer, zylindrischer, herzförmiger oder flach blattförmiger Gestalt. Der Unterschied zur Parallelgattung *Chlamydomonas* liegt hauptsächlich darin, daß *Dunaliella* von keiner differenzierten, bei der Teilung zurückbleibenden Zellulosehülle, sondern nur von einer dicken Hautschicht umgeben ist. Der napfförmige Chromatophor trägt im verdickten Basalteil (bei *D. lateralis* allerdings seitlich) ein ellipsoidisches bis kugeliges Pyrenoid und seitlich einen Augenfleck. Ein bis zwei kontraktile Vakuolen finden sich nur bei den Süßwasserformen. Die ungeschlechtliche Fortpflanzung findet durch Längsteilung im beweglichen Zustand statt. Bei der geschlechtlichen Fortpflanzung werden Isogameten gebildet, die mit ihren Vorderenden verschmelzen. Die Zygote, die von einer glatten Außenmembran und einer zarten Endomembran umgeben ist, färbt sich durch Karotin rot. Nach einem Ruhestadium keimt die Zygote, wobei die Reduktionsteilung stattfindet, und bildet 1, 2, 4 usw. bis 32 Keimzellen, die durch einen Membranriß ausschlüpfen. In ungünstigen Lebensverhältnissen können Palmellastadien gebildet werden. Für einige Arten ist reichliche Karotinbildung auch in vegetativen Zellen charakteristisch. Asexuelle Cysten wurden bei keiner Art beobachtet.

Dunaliella kommt im Salz- und Süßwasser vor. Die Salzwasserformen haben eine sehr große Toleranz gegenüber allen Salzkonzentrationen. Sie vertragen salzgesättigte Lösungen bis zu schwach brackigem Wasser. Die optimalen Salzkonzentrationen sind für die einzelnen Arten verschieden.

Salzwasserformen:

Dunaliella salina Téodoresco: (Taf. 4 [1]) Fig. 2 u. 3, Taf. 5 Phot. 2 u. 3). Ellipsoidische bis zylindrische größere Form mit langsamen Bewegungen (Kopulation und Zygoten am Boden). Napfförmiger Chromatophor mit basalem Pyrenoid und kleinem Augenfleck, der

[1]) Die Arten wurden zum übersichtlichen Vergleich auf einer Tafel, alle im selben Maßstab vergrößert, gemeinsam dargestellt. Die einzelnen Individuen wurden so ausgewählt, daß sie mit dem aus mindestens 200 Größenmessungen erhaltenen Mittelwert übereinstimmen. Von der Zeichnung der sich durch die große Varia-

unter bestimmten Ernährungsbedingungen nur als linsenartige hyaline Vorwölbung erscheint. Geißeln 1—$1^1/_3$ Körperlänge. Reichliche Karotinbildung auch in den vegetativen Zellen unter ungünstigen Ernährungsbedingungen. Diözisch und subdiözisch. Optimale Salzkonzentration bei 6—7 Proz. NaCl.

Zellgröße: $17 \times 9\,\mu$ ($12—21 \times 6—13\,\mu$)[1].
Palmellengröße: $6 \times 6\,\mu$.
Zygotendurchmesser: $14—21\,\mu$.
Vorkommen: Rumänien, Sardinien, Frankreich und Spanien.

Dunaliella salina f. oblonga: (Taf. 4 Fig. 4, Taf. 5 Phot. 4) unterscheidet sich von *D. salina* nur durch die schmälere und relativ längere, also im ganzen schmächtiger erscheinende Körperform. Diözisch.

Zellgröße: $21 \times 7\,\mu$ ($15—28\,\mu \times 5—10\,\mu$).
Vorkommen: Cagliari?

Dunaliella salina f. magna: (Taf. 4 Fig. 1, Taf. 5 Phot. 1) unterscheidet sich von *D. salina* durch die Zellgröße bei gleicher Zellform. Sexualität?

Optimale Salzkonzentration 4 Proz. NaCl.
Zellgröße: $22 \times 14\,\mu$ ($16—29\,\mu \times 10—21\,\mu$).
Vorkommen: Rumänien.

Dunaliella parva n. sp. (Rumänien): (Taf. 5 Phot. 6). Ellipsoidische Form, die große Ähnlichkeit mit *D. salina* hat, die aber kleiner und beweglicher ist. Topfförmiger Chromatophor mit basalem Pyrenoid und kleinem Augenfleck. Geißeln etwa $1^1/_3$ Körperlänge. Kopulation und Zygoten auch an der Wasseroberfläche. Schwache Karotinbildung in vegetativen Zellen unter ungünstigen Ernährungsbedingungen. Monözisch. Optimale Salzkonzentration 6—8 Proz. NaCl.

Zellgröße: $12 \times 7\,\mu$ ($9—14\,\mu \times 4—10\,\mu$).
Zygotendurchmesser: $12—15\,\mu$.
Vorkommen: Rumänien.

bilität ergebenden Formen wurde abgesehen, da sie das Bild verwirren und außerdem ohne weiteres aus den angegebenen Zahlen zu rekonstruieren sind. Auch Anormalitäten (Formen mit überzähligen Geißeln oder Pyrenoiden) wurden, da diese in Arbeiten früherer Untersucher reichlich berücksichtigt sind, nicht abgebildet.

[1]) Die in Klammern angegebene Längen- und Breitenvariation bezieht sich immer auf ausgewachsene Zellen unter günstigen Entwicklungsbedingungen: frisch geschlüpfte Zellen von *D. salina* haben z. B. nur eine Länge von $8—12\,\mu$ und eine Breite von $5—6\,\mu$, und in alten Kulturen kann man reservestoffreiche Individuen von der Größe $21 \times 25\,\mu$ finden.

Dunaliella parva (Prag): (Taf. 4 Fig. 5) wie oben, nur stärkere Karotinbildung in vegetativen Zellen. Optimale Salzkonzentration 6 Proz. NaCl. Sexualität?

Zellgröße: 12 × 7 μ (10—16 μ × 5—9 μ).

Vorkommen: Vorderasien.

Dunaliella parva f. eugameta: (Taf. 4 Fig. 8, Taf. 5 Phot. 7) etwas schmächtiger als die beiden vorstehenden Arten, zeichnet sich durch starke Neigung zur Kopulation aus, Karotinbildung in vegetativen Zellen sehr schwach.

Monözisch. Optimale Salzkonzentration 2 Proz. NaCl.

Zellgröße: 12 × 5,5 μ (9—14 μ × 4—8 μ).

Zygotendurchmesser: 10—15 μ.

Vorkommen: Rumänien.

Dunaliella Percei NICOLAI: (NICOLAI u. BAAS BECKING, 1935, Arch. f. Prot. Bd. 85 S. 319) (Taf. 4 Fig. 6a u. b, Taf. 5 Phot. 5).

Blattähnlich abgeflachter, vorn breiter, hinten verschmälerter Körper mit topfförmigem Chromatophor mit basalem Pyrenoid und deutlichem Augenfleck. Geißeln 1—1 1/3 Körperlänge.

Karotinbildung nur in der Zygote. Monözisch. Optimale Salzkonzentration 4—5 Proz. NaCl.

Zellgröße: 15 × 7 μ (7—25 μ × 3—12 μ). Zelldicke: 2—6 μ.

Zygotendurchmesser: 10—12 μ.

Vorkommen: Kalifornien.

Dunaliella media n. sp.: (Taf. 4 Fig. 7, Taf. 5 Phot. 8), ellipsoidischer Körper, nach hinten in eine Spitze schmal verlängert, topfförmiger Chromatophor mit basalem Pyrenoid und deutlichem Augenfleck. Geißeln etwa 1—1 1/3 Körperlänge.

Keine Karotinbildung in vegetativen Zellen. Sexualität?

Optimale Salzkonzentration 4—6 Proz. NaCl.

Zellgröße: 13 × 4 μ (10—20 μ × 3—5 μ).

Vorkommen: Kalifornien.

Dunaliella euchlora n. sp.: (Taf. 4 Fig. 9, Taf. 5 Phot. 9). Kleine, bewegliche, stets grüne Form von ellipsoidischer Gestalt, manchmal mit leicht zugespitztem Hinterende (in jungen Kulturen), mit topfförmigem Chromatophor mit Pyrenoid und großem Augenfleck. Geißeln etwa 1 1/3 Körperlänge. Monözisch. Optimale Salzkonzentration 5—7 Proz. NaCl.

Zellgröße: 9 × 5 μ (7—12 μ × 4—7 μ).

Zygotendurchmesser: 8—17 μ.

Vorkommen: Rumänien, Sardinien, Kalifornien.

Dunaliella minuta n. sp.: (Taf. 4 Fig. 10, Taf. 5 Phot. 10). Kleine, bewegliche, schmale, ellipsoidische, stets grüne Form mit topfförmigem Chromatophor mit basalem Pyrenoid und großem Augenfleck. Geißeln etwa $1^1/_3$ Körperlänge. Monözisch.

Zellgröße: $9 \times 3\,\mu$ ($7—11\,\mu \times 2—4\,\mu$).

Zygotendurchmesser: $8—17\,\mu$.

Vorkommen: Rumänien.

Die Art *Dunaliella viridis* konnte in der von Téodoresco beschriebenen Form nicht aufgefunden werden. Da die Beschreibung teils für *D. parva* teils für *D. euchlora* paßt, wird angenommen, daß es sich um diese Arten handelte und die Art *D. viridis* deshalb vorläufig gestrichen.

Süßwasserformen:

Dunaliella cordata Pascher: (Pascher, A. u. Johoda, R., 1928, Arch. Prot. Bd. 61 S. 245). Zellen meist breiter als lang, gegen Basis manchmal verschmälert, an der Geißelbasis eingezogen, unregelmäßig herzförmig, großer Augenfleck, Geißeln kaum so lang wie der Körper, eine bis zwei kontraktile Vakuolen.

Zellgröße: $8—10\,\mu \times 6—8\,\mu$.

Vorkommen: Pauschenalm und Durchlaßalm (Niederösterreich).

Dunaliella lateralis Pascher: (Pascher, A. u. Johoda, R., 1928, Arch. Prot. Bd. 61 S. 246). Zellen eiförmig, nach vorn verschmälert, Pyrenoid seitlich in Verdickung des Chromatophors gelegen, kleiner Augenfleck, Geißeln körperlang.

Zellgröße: $9—11\,\mu \times 5—6\,\mu$.

Vorkommen: Pauschenalm (Niederösterreich).

Dunaliella paupera Pascher: (Pascher, A., 1932, Arch. Prot. Bd. 76 S. 2). Zellen breit eiförmig, basal abgerundet und vorn stumpf, großer topfförmiger Chromatophor ohne Stigma und Pyrenoid, Geißeln etwas über körperlang, zwei kontraktile Vakuolen. Ausgeprägte Metabolie.

Zellgröße: $9—12\,\mu \times 7—9\,\mu$.

Vorkommen: Schlesien in Faulschlamm.

Außerdem bildet Pascher noch eine größere Form ab, $18—20\,\mu \times 9—12\,\mu$ mit sternförmig gekerbtem Chromatophor, die aber, da zu wenig untersucht, ohne Namen blieb.

9. Theoretische Schlußbetrachtungen.

Da die vorliegende Arbeit hauptsächlich als Vorarbeit für eventuelle genetische Versuche gedacht war, ist die Ausbeute an theoretischen Ergebnissen gering. Am wichtigsten ist wohl die Tatsache,

daß an einer weiteren Algengattung ein Teil der an Chlamydomonaden erhaltenen grundsätzlich wichtigen Ergebnisse bestätigt und ergänzt werden konnte. Zunächst wurde wieder ein Fall genotypisch bedingter Diözie bei isogamer Ausbildung der Gameten festgestellt, bei dem wieder zwei verschiedene, geschlechtsspezifische Stoffe nachgewiesen werden konnten, ein weiteres Beispiel für ein solches sekundäres Geschlechtsmerkmal. Interessant ist ferner das Vorkommen einer subdiözischen Form, die hoffentlich noch weiter untersucht werden kann.

Die Benutzung der roten und grünen Modifikation zur Markierung der geschlechtsverschiedenen Gameten führte die schon bekannte Tatsache, daß bei genotypischer Diözie nur geschlechtsverschiedene Gameten miteinander kopulieren, klar vor Augen. Wichtiger ist die Markierung der Restgameten bei monözischen Formen, damit sich auch für diese Versuche, die immer wieder angezweifelt werden, klar zeigen läßt, daß nur geschlechtsverschiedene Restgameten miteinander reagieren. Da sich *Dunaliella* für solche Versuche, d. h. überhaupt für die Herstellung von Restgameten, als ungünstig erwies, wurde nach einer anderen, sich rot färbenden, monözischen Alge gesucht, die sich in *Haematococcus pluvialis* auch fand. Die Versuche sind zwar noch nicht abgeschlossen. Es kann aber doch schon so viel gesagt werden, daß wenn bei Kombination von roten und grünen Restgameten erneut Kopulationen ausgelöst werden, sich stets die roten mit den grünen vereinigen, es sich also nicht um einen durch Vermischen der Lösungen neu hergestellten physiologischen Zustand handelt, der wieder Kopulation zwischen a l l e n Gameten auslöst, sondern um Verschmelzung geschlechtsverschiedener monözischer Gameten.

Schließlich führten Beobachtungen, die bei der Kreuzung *D. salina* × *D. salina f. oblonga* gemacht wurden, zu einigen spekulativen Gedankengängen. Wie schon oben geschildert, macht die Kopulation der beiden Formen – die Verschmelzung einer größeren, mehr runden Form mit der schmächtigeren länglichen Zelle – ganz den Eindruck von Anisogamie. Weiter wurde die merkwürdige Tatsache festgestellt, daß die doch recht verschiedene Körperform nur durch ein mendelndes Gen bedingt ist, das unabhängig vom Geschlechtsrealisator spaltet. Mit der nicht allzufern liegenden Annahme, daß ein solches Körperformgen mit dem Geschlechtsrealisator gekoppelt wäre und die Verschmelzung der größeren, reservestoffreichen Zelle mit der schmächtigen von selektionistischem Wert wäre, kann man sich vorstellen, wie die typische Anisogamie entstanden ist und wie es zur

Ausprägung solcher morphologischer Merkmale, die man für gewöhnlich als Attribute des männlichen und weiblichen Geschlechtes anspricht, gekommen ist. Man kann dann also, von phänotypisch monözischen Formen ausgehend, denen man die Sexualität überhaupt absprechen will, über genotypische Diözisten, wie sie von Moewus (1935 a, b) hergestellt wurden, in einer kontinuierlichen Reihe bis zu solcher „männlicher" und „weiblicher" Ausbildung kommen; ein Weg, der grundsätzlich auch im Experiment beschritten werden könnte.

Der von M. Hartmann vertretenen Theorie der bipolaren Sexualität wird von Czurda (1932) und Mainx (1935) zum Vorwurf gemacht, daß vom Komplizierten auf das Einfache geschlossen wird und z. B. „in oberflächlicher Analogie bei völliger Isogamie willkürlich einer der Kopulanten als männlich oder weiblich bezeichnet wird". Es ist nun überflüssig zu betonen, wie die durch generalisierende Induktion gewonnene Theorie sich gerade beim „Einfachen" als besonders fruchtbar erwiesen hat und sich ihre Postulate gerade bei den primitivsten Sexualprozessen beweisen ließen. Wichtiger ist, festzustellen, daß es eine völlige Isogamie im Sinne von Mainx, wo jeder Gamet theoretisch mit jedem Gamet kopulieren kann, wie es aus den Versuchen von Moewus hervorgeht und auch vorliegende Untersuchung zu zeigen sucht, überhaupt nicht gibt, und daß die Bezeichnung „männlich" und „weiblich" für Isogameten nicht in oberflächlicher Analogie gewählt ist, sondern Ausdruck des überall vorhandenen bisexuellen Unterschiedes ist. Ob man nun jeweils den + - oder - -Stamm mit männlich oder weiblich bezeichnen muß, wird sich, eventuell durch vergleichende Untersuchung der Geschlechtsstoffe, vielleicht später einmal entscheiden lassen.

10. Zusammenfassung.

1. *Dunaliella salina*, *Dunaliella Peircei* und acht neue Arten und Unterarten werden mit Hilfe exakter Kulturmethoden untersucht und beschrieben (Zellgröße, Form und Bau).

2. Es wird die Abhängigkeit des Wachstums von der Salzkonzentration bestimmt.

3. Die Unterscheidung von roten und grünen *Dunaliella*-Arten ist hinfällig, da alle Arten unter optimalen Lebensbedingungen grün sind. Die Rotfärbung durch Karotinbildung, die bei *Dunaliella salina* und *Dunaliella parva* vorkommt, ist eine Modifikation, die bei Mangel von Stickstoff oder Phosphor gebildet wird.

4. Ungeschlechtliche Dauerzellen werden, auch unter ungünstigen Lebensbedingungen, nicht gebildet. In schwachen Salzlösungen bildet *Dunaliella salina* ein Palmellastadium.

5. Bei sieben Arten konnte Sexualität ausgelöst werden. Herabsetzung der Salzkonzentration wirkt bei *D. salina* kopulationsauslösend, bei den übrigen Arten spielt außerdem Nährstoffmangel eine Rolle. Verlauf von Kopulation, Zygotenbildung und Keimung werden geschildert.

6. *Dunaliella* ist ein Haplont, die Reduktionsteilung findet bei der Zygotenkeimung statt.

7. *D. salina* ist genotypisch getrenntgeschlechtlich, kommt auch als Subdiözist vor. Die übrigen Arten sind monözisch und haben phänotypische Geschlechtsbestimmung.

8. Bei *D. salina* wurde Gruppenbildung beobachtet und zwei verschiedene, spezifische Geschlechtsstoffe in Zentrifugaten nachgewiesen.

9. Es wurden zwei Kreuzungen ausgeführt:

Protokoll (für die Kurven Abb. 1).

Art	$^1/_4$ %	$^1/_2$ %	1 %	2 %	3 %	4 %	5 %	6 %	7 %	8 %	10 %	12,5 %	NaCl 15 %	Auswachstumsgangsdauer (Tage)	Anzahl in 50 ccm
D. salina f. magna	—	—	—	48	134	228	126	20	0,24	nicht mehr zählbar			—	36	108
D. salina	—	—	0,2	68	192	410	510	700	800	560	104	31	11	34	168
D. salina f. oblonga	—	—	Palmellen	169	580	640	980	1 240	1 200	480	340	147	30	35	135
D. parva (Rum.)	—	—	0,5	220	290	420	560	640	960	960	220	nicht weiter verfolgt	—	38	118
D. parva (Prag)	—	—	—	36	580	1 120	1 320	1 960	720	173	0,5	—	—	38	131
D. parva f. euganeta	—	580	1265	1 385	780	600	680	226	258	10	5	2	—	20	33
D. Peircei	—	—	0,4	40	780	7 800	8 100	5 100	4 000	3600	1700	—	500	26	227
D. media	230	6400	9500	13 000	15 000	17 000	175 000	16 500	11 500	8800	7400	nicht weiter verfolgt		27	200
D. euchlora	71	636	1090	1 740	1 890	2 010	2 910	3 510	2 910	2400	78		—	18	54

Individuenzahl in 0,0018 ccm.

(Jeder Wert ist der Mittelwert aus 10 Auszählungen (50—100 Indiv. × 10). Die etwas herausfallenden Werte sind nicht durch Meßfehler zu erklären, sondern durch schlechteres Wachstum der Kultur, das wahrscheinlich in einer schädigenden Wirkung des Glases begründet war. Solche Fehler hätten durch Parallelversuche ausgeschaltet werden können. Da aber die erhaltenen Werte für den eigentlichen Zweck des Versuchs, nämlich die Feststellung der optimalen Salzkonzentration, genügte, wurde von weiteren Versuchen abgesehen.)

1. *Dunaliella salina* × *Dunaliella salina f. oblonga.* Tetradenanalysen ergaben, daß die Körperform durch ein Gen bedingt ist, das unabhängig vom Geschlechtsrealisator spaltet. Geschlechtsrealisator und Formgen können im ersten oder zweiten oder auch in verschiedenen Teilungsschritten der Reduktionsteilung verteilt werden.

2. *Dunaliella salina* (diözisch) × *D. salina* (subdiözisch). Diese Kreuzung wurde noch nicht analysiert.

10. Durch Farbmarkierung (Rot- und Grünfärbung bei Besitz bzw. Mangel von Karotin) von + - und — -Gameten der genotypisch getrenntgeschlechtlichen *D. salina* und des phänotypisch monözischen *Haematococcus pluvialis* konnte bewiesen werden, daß stets nur geschlechtsverschiedene Gameten miteinander verschmelzen.

Literaturverzeichnis.

Blanchard, R. (1891): Résultats d'une excursion zoologique en Algérie. Mém. de la soc. Zool. de France.

Bujor, P. (1928): Nouvelle contribution à l'étude de la biologie du lac salé de Tékirghiol. Comité du 5. Congrès International de Jassay Thalassothérapie.

Cavara, F. (1906): Alcune osservazione sulla Dunaliella salina (Dun.) Téod. delle saline di Cagliari. Rend. della R. Acad. delle Sc. Fis. e matemat. di Napoli Serie 3 Vol. 12 Anno 45.

Chodat, R. et Fl. Mayer (1927): Sur les conditions de la formation de la carotine chez les Algues vertes. Compt. rend. d. Séances de Génève.

Czurda, V. (1932): Über einige Grundbegriffe der Sexualitätstheorie. Beih. Bot. Centralbl. Bd. 50 Abt. 1.

Föyn, B. (1929): Untersuchungen über die Sexualität und Entwicklung von Algen. Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 47.

Hamburger, C. (1905): Zur Kenntnis der Dunaliella salina und einer Amöbe aus Salinenwasser von Cagliari. Arch. f. Protistenk. Bd. 6.

Labbé, A. (1921): a) Le cycleé volotif de Dunaliella salina. b) Sur les modifications adaptives de Dunaliella salina. Compt. rend. d. Séances. Acad. des Sciences T. 172.

Liebetanz, B. (1925): Studja hydrobiologiczne solanek Kujawskich. Bull. Intern. de l'Acad. Polonaise des Sc. et des Lettres. No. 1—2.

Mainx, F. (1933): Die Sexualität als Problem der Genetik. Jena.

Moewus, F. (1933): Untersuchungen über die Sexualität und Entwicklung von Chlorophyceen. Arch. f. Protistenk. Bd. 80.

— (1935a): Die Vererbung des Geschlechts bei verschiedenen Rassen von Protosiphon botryoides. Ibid. Bd. 86.

— (1935b): Über die Vererbung des Geschlechts bei Polytoma Pascheri und bei Polytoma uvella. Ztschr. f. ind. Abst. und Vererb. Bd. 69.

Nicolai, E. u. G. M. Baas Becking (1935): Einige Notizen über Salzflagellaten. Arch. f. Protistenk. Bd. 85.

Pascher, A. (1932): Zur Kenntnis der einzelligen Volvocalen. (Beiträge zur Kenntnis der einheimischen Algenflora. I.) Arch. f. Protistenk. Bd. 76.

Pascher, A. u. R. Johoda (1928): Neue Polyblepharideen und Chlamydomonadinen aus den Alttümpeln um Lunz. Arch. f. Protistenk. Bd. 61.

Reichenow, E. (1909): Untersuchungen an Haematococcus pluvialis nebst Bemerkungen über andere Flagellaten. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt Bd. 33 Heft 1.

Richter, A. (1892): Über die Anpassung der Süßwasseralgen an Kochsalzlösungen. Flora.

Sciacchitano, J. (1926): Contribution alla conescenza della Dunaliella salina. Int. Rec. ges. Hydrobiol. u. Hydrogr. Vol. 16.

Téodoresco, E. C. (1905): Organisation et développement du Dunaliella, nouveau genre de Volvocacée-Polyblepharidée. Beih. Bot. Centralbl. Bd. 1 Abt. 18.

— (1906): Observations morphologiques et biologiques sur le genre Dunaliella. Revue gén. de Bot. T. 18.

Tafelerklärung.

Tafel 4—6.

Tafel 4 (Vergrößerung: 2340 ×).

Fig. 1. *D. salina f. magna.*
Fig. 2. *D. salina* (rote Modifikation).
Fig. 3. *D. salina* (grüne Modifikation).
Fig. 4. *D. salina f. oblonga.*
Fig. 5. *D. parva* (Prag).
Fig. 6. a *D. Peircei*; b Seitenansicht.
Fig. 7. *D. media.*
Fig. 8. *D. parva f. eugameta.*
Fig. 9. *D. euchlora.*
Fig. 10. *D. minuta.*
Fig. 11. a, b, c Kopulation von *D. Peircei.* d Zygote.
Fig. 12a u. b. Kopulation von *D. salina* × *D. salina f. oblonga*

Tafel 5.

Phot. 1. *D. salina f. magna.* 360 ×.
Phot. 2. *D. salina* (grüne Form). 360 ×.
Phot. 3. *D. salina* (rote Form). 360 ×.
Phot. 4. *D. salina f. oblonga.* 360 ×.
Phot. 5. *D. Peircei.* 360 ×.
Phot. 6. *D. parva* (Rumänien). 360 ×.
Phot. 7. *D. parva f. eugameta.* 360 ×.
Phot. 8. *D. media.* 360 ×.
Phot. 9. *D. euchlora.* 360 ×.
Phot. 10. *D. minuta.* 360 ×.
Phot. 11a u. b. Kopulation *D. salina* × *D. salina f. oblonga.* 900 ×.
Phot. 12a u. b. Spätere Stadien. 900 ×.
Phot. 13. Gruppenbildung eines grünen +-Stammes mit rotem —-Stamm. Die roten Gameten erscheinen in der Photographie dunkler als die grünen. a 90 ×; b 180 ×.
Phot. 14. Gruppenbildung des roten Stammes mit Geschlechtsstoffen vom grünen. a 90 ×; b 180 ×.

Tafel 6 (Farbendruck).

Fig. 1. Gruppenbildung der roten und grünen Form von *D. salina.* 625 ×.
Fig. 2a—e. Kopulation von *D. salina* (grüne und rote Form). 1250 ×.

1

2

3

4

5

6

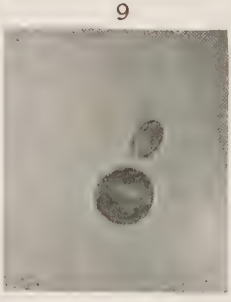
7

8

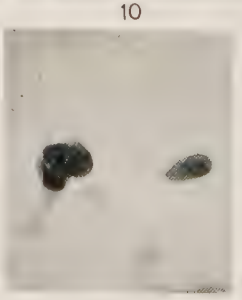
9

10

11a



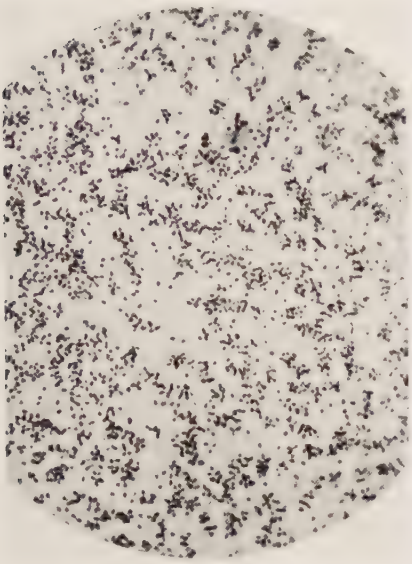
11b



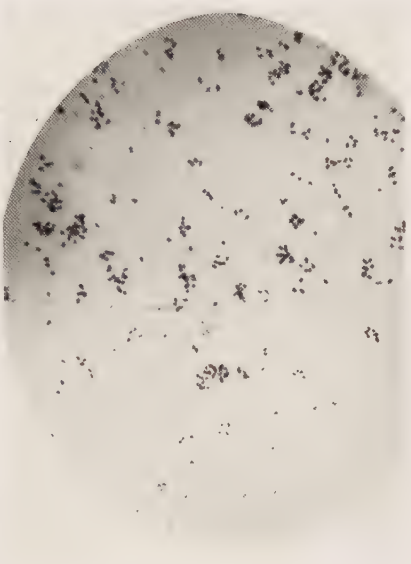
12a

12b

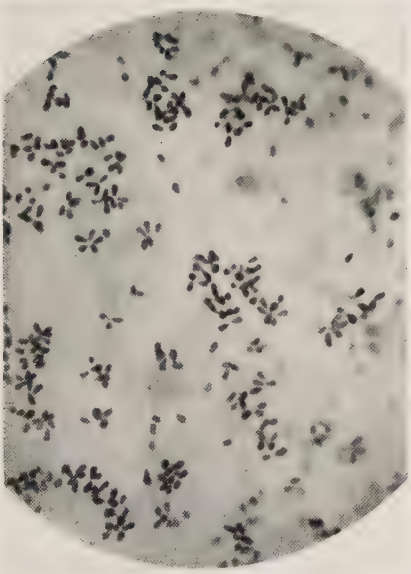
VERLAG



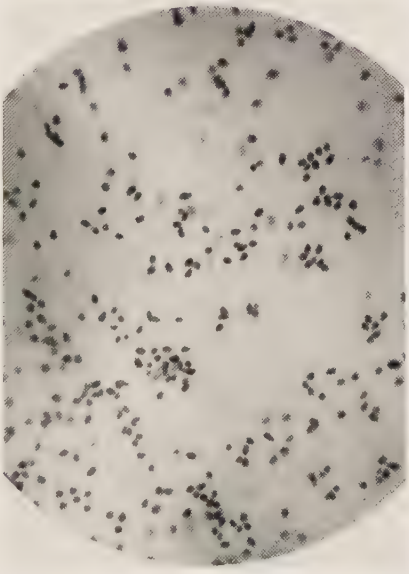
13a



14a

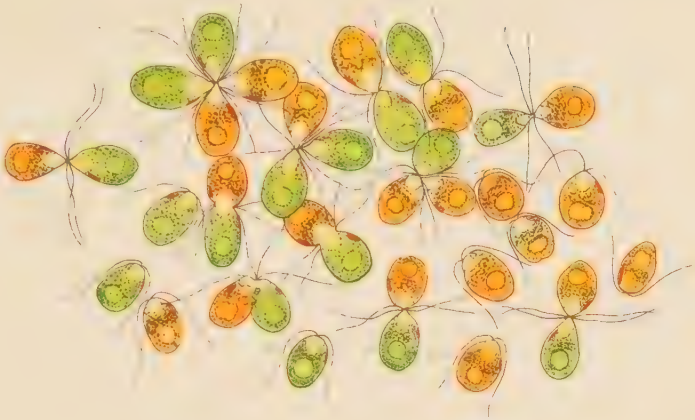


13b

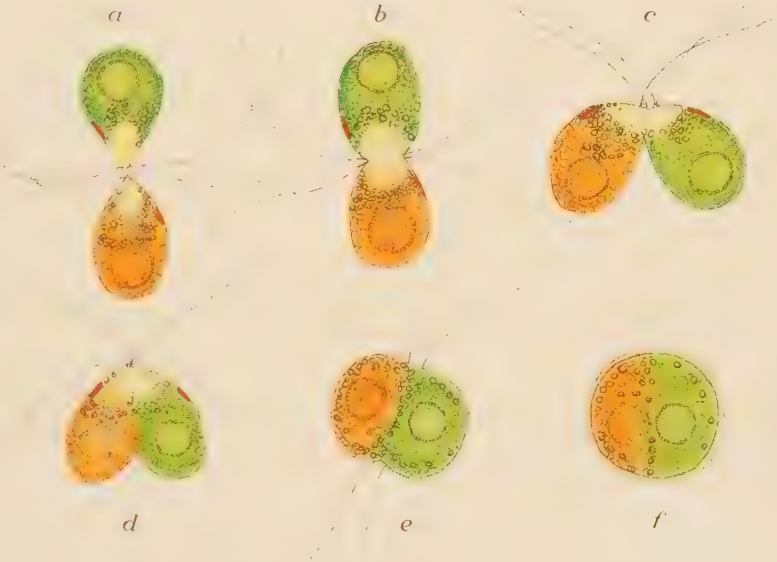


14b

.N JENA



1



2

Lerche
Verlag von Gustav Fischer in Jena
Lith. Anst. v. C. A. Funke Leipzig

Lebenslauf.

Ich, Witta Lerche, Tochter des verstorbenen Ministerialrat Julius Lerche und seiner Frau Else, geb. Franck, bin am 10. Juni 1906 in Berlin-Lichterfelde geboren; ich bin evangelisch.

Nach Ablegung des Abiturs (1925) an der Zehlendorfer Oberrealschule studierte ich 8 Semester, von 1927—1931 (6 Semester in Berlin und 2 in Freiburg), Naturwissenschaften. 1932 bestand ich das Staatsexamen in den Fächern: Biologie, Chemie und Physik. Seit November 1932 arbeite ich im Kaiser-Wilhelm-Institut für Biologie und habe unter der Anleitung von Herrn Prof. Dr. M. Hartmann meine Doktorarbeit fertiggestellt.